

Ultrastruktur des Epithels von *Viviparus viviparus*.

Gäde, Mario; m.gaede@gmx.net

Körner, Sandra; sandra_koerner@gmx.net

Abstract

In diesem Praktikum wurden drei verschiedene Deckelschnecken - eine marine, eine Süßwasser- und eine Landdeckelschnecke - untersucht, wobei sich diese Arbeit mit der stumpfen Sumpfdeckelschnecke *Viviparus viviparus* befasst. Die elektronenmikroskopisch erstellten Bilder unseres selbst angefertigten Präparates waren sehr gut geeignet, um die aus der Literatur beschriebenen epidermalen, sekretorischen und bewimperten Zellen der Epidermis zu identifizieren und zuzuordnen. Die vorgefundene Epidermis besteht aus einer Schicht sehr schmaler Zellen, die größtenteils eine Mukus-produzierende Funktion hatten und sehr stark mit Cilien und teilweise mit Mikrovilli bedeckt waren. Daraus wurde geschlussfolgert, dass es sich bei den betrachteten Epithelabschnitten der Präparate vermutlich um einen Abschnitt des Fußes handelt, welcher eine hohe Schleimproduktion und viel Bewegung liefert.

Einleitung

Die Familie der Sumpfdeckelschnecken (Viviparidae) kommt bis auf wenige Orte weltweit vor und ist in den europäischen Breitengraden mit fünf Arten vertreten. Sie kommen im Süßwasser vor und besitzen ein kalkhaltiges und festes Gehäuse, welches sie mit einem fest am Fuß verwachsenen Deckel verschließen können. So sind sie in der Lage sich bei Gefahr zurückzuziehen und sich vor Austrocknung zu schützen. Bei der Winterruhe ist dieser Deckel ebenso wichtig, da die Schnecke sich am Grund des Gewässers vergräbt und sich mit dem Deckel verschließt (Fechter, 1990). Den wissenschaftlichen Namen *Viviparus* verdanken die Schnecken ihrer Fähigkeit der Lebendgeburt, womit sie im europäischen Raum die einzigen Vertreter der lebendgebärenden (ovoviviparen) Schnecken sind. Die Jungtiere schlüpfen noch in der Mantelhöhle der Mutter und verlassen als vollständig ausgebildete Schnecken mit einer Größe von ca. 10 mm die Mutter (Fechter, 1990). Bei *V. viviparus* handelt es sich um getrenntgeschlechtliche Lebewesen. Hierdurch lassen sich die Männchen und Weibchen aufgrund der Beschaffenheit der Fühler unterscheiden. So ist der rechte Fühler der Männchen zum Begattungsorgan umgebildet, wodurch dieser dicker als der linke Fühler erscheint. Bei Weibchen hingegen sind die beiden Fühler identisch ausgebildet. Während Jungtiere noch ein deutliches Streifenmuster aufweisen,

verblasst dieses bei älteren Tieren zunehmend (Fechter, 1990). Sumpfdeckelschnecken sind Weidegänger und ernähren sich hauptsächlich von Detritus und Algen, welche sie mit ihrer Radula abraspeln. Zusätzlich sind sie in der Lage winzige Nahrungspartikel und Plankton mit Hilfe eines Netzes aus selbst gebildetem Schleim aus dem Wasser zu filtrieren. Dieses Schleimnetz wird an der Kiemenbasis vom Endostyl gebildet und filtert so Partikel aus dem Wasser, welches anschließend bei der Atmung die Kiemen durchspült. Danach wird aus dem Schleimfilter und den Nahrungspartikeln eine Schleimwurst geformt, welche in der Futterrinne zum Kopf hin befördert wird (Buddenbrock, 1956).

Die Körperoberfläche besteht im Allgemeinen aus länglichen Epithelzellen, die mit kurzen Wimpern bedeckt sind, wobei der Fuß der Schnecke durch länger bewimperte Zellen charakterisiert wird (Fretter, 1962). Zudem besitzen die meisten Epithelzellen Mikrovilli an ihrer Oberfläche (Machin, 1977). Die drei häufigsten Zelltypen der Epidermis bei Prosobranchia sind epidermale, sekretorische und bewimperte Zellen (Abb. 1). Trotz dieser allgemeinen Einteilung kann die Funktion des Epithels sehr weit gefächert sein. So kann es neben dem Schutz vor der Umwelt eine respiratorische Funktion besitzen oder auch der Assimilation von Nährstoffen, der Entgiftung, der Bewegung, der Wahrnehmung

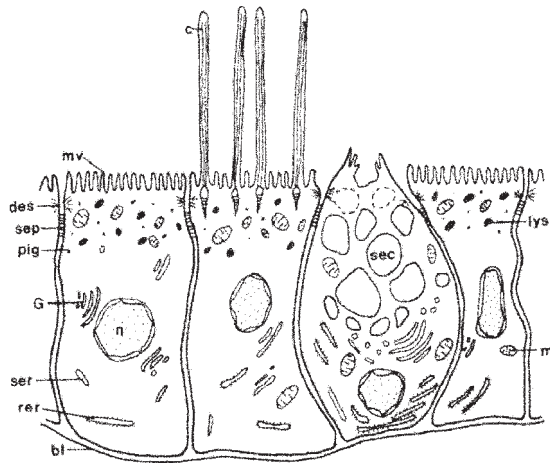


Abb.1. Darstellung verschiedener Zelltypen im Epithel von Gastropoden. Zu sehen sind epidermale (links), bewimperte (mittig) und sekretorische (rechts) Zellen. Nicht maßstabsgetreu. Mikrovilli (mv), Desmosom (des), Septumverbindung (sep), Pigment (pig), Golgi-Apparat (G), glattes Endoplasmatisches Retikulum (ser), raues ER (rer), Basallamina (bl), Cilium (c), sekretorische Vakuole (sec), Lysosom (lys), Mitochondrium (m). Entnommen aus Harrison (1994).

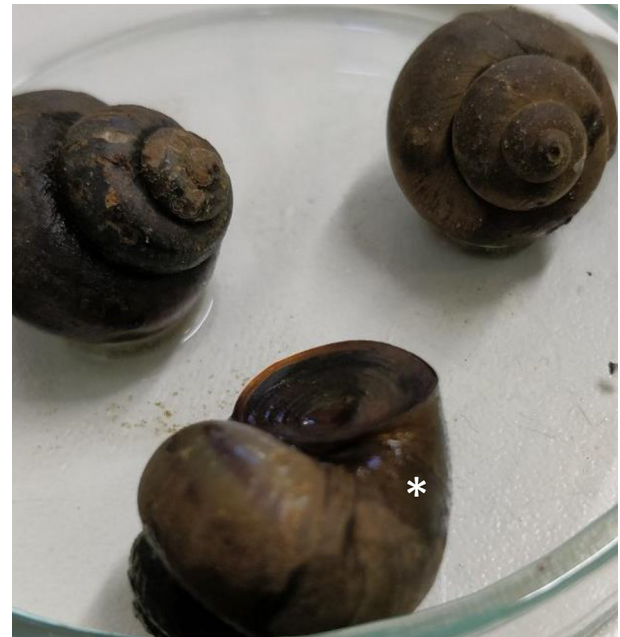


Abb.2. Zu sehen sind die gesammelten Exemplare vor der Probenentnahme. Diese hatten eine Gehäusegröße von ca. 4-5 cm in der Höhe. Auf der Unterseite des vordersten Exemplars ist ein schwaches Streifenmuster erkennbar. Das verwendete Exemplar ist mit einem * gekennzeichnet.

oder der Reproduktion dienen (Graham, 1957; Bubel, 1984).

Diese Arbeit beschreibt das Erstellen und die Analyse von raster- und transmissionselektronenmikroskopischen Bildern. Mithilfe dieser Bilder sollte die Epidermis der stumpfen Sumpf-

deckelschnecke *Viviparus viviparus* untersucht werden, sodass diese mit der Epidermis von zwei weiteren nahen Verwandten, welche in anderen Habitaten vorkommen, verglichen werden können. So sollte überprüft werden, ob es epidermale Anpassungen an das jeweilige Habitat gibt.

Material & Methoden

Die verwendeten Proben wurden einem adulten Exemplar der *V. viviparus* entnommen, welches im April 2018 in Berlin gesammelt wurde. Um an die Epidermis zu gelangen wurde die Schnecke am Deckel herausgezogen und der Deckel samt einem Teil des Fußes abgeschnitten. Von diesem Teil wurden verschieden große Stücken der Ober- und der Unterseite entfernt und präpariert. Die erhaltenen Proben wurden zunächst in einem 0,1 M Phosphatpuffer (pH=7) mit 2,5 % Glutaraldehyd und 2 % Paraformaldehyd für 45 Min. bei Raumtemperatur primärfixiert. Nach einem 5-minütigen Waschschriff in 0,1 M Phosphatpuffer mit einem pH von 6,8 wurde mit einer 1 %igen Osmiumtetroxid-Lösung in 0,1 M Phosphatpuffer (pH=6,8) für 30 Min. auf Eis sekundärfixiert. Zur Entwässerung wurden die Proben mit einer Reihe aus Waschschriffen à 10 Min in verschiedenprozentigen Ethanol-Lösungen (30 %, 50 %, 70 %, 80 %, 90 %, 95 %, 100%) auf Eis behandelt. Die Präparate wurden über Nacht in 100 %igem Ethanol bei 4 °C aufbe-

wahrt und am Folgetag erneut mit 100 % Ethanol 10 Minuten gewaschen.

Die Proben wurden nun in REM- und TEM-Proben aufgeteilt. Hierzu wurde eine größere Probe mit einem Skalpell zweigeteilt um einen Querschnitt zu erzeugen. Den Proben für das Rasterelektronenmikroskop (LEO 1430, Zeiss) wurde daraufhin mittels Kritisch-Punkt-Trocknung (CPD 030, Bal-tec) in 13 Wiederholungen die Flüssigkeit vollständig entzogen. Anschließend wurden die REM-Proben auf Objektträger („stubs“) aufgeklebt und nachfolgend mit Goldpartikeln besputtert (Bal-tec).

Die Proben für das Transmissionselektronenmikroskop (EM900, Zeiss) wurden durch das Waschen in Lösungen aus Propylenoxid und Araldit A in verschiedenen Anteilen (1:0, 3:1, 2:1, 1:1, 1:2, 1:3, 0:1) je 2-2,5 h bei Raumtemperatur und letztendlich in Araldit B durch Polymerisation bei 60 °C für 48 h eingebettet. Araldit A bestand hierbei aus 51 % Araldit CY 212 und 49 % DDSA. Araldit B entsprach zu

97,34 % dem Gemisch, welches Araldit A bildet und zusätzlich 2,66 % BDMA als Polymerisationsstarter enthielt. Nach vollständiger Aushärtung wurden Semidünnschnitte mit einer Schnittdicke von 500 nm

mit einem Glasmesser, sowie Ultradünnschnitte mit einer Dicke von 60 nm mit einem Diamantmesser angefertigt (Reichert Ultracut S).

Ergebnisse

Die gesammelten Exemplare der *V. viviparus* (Abb. 2) zeigten von sich aus keine Bewegungen. Das Gehäuse hatte eine Größe von ca. 4-5 cm in der Höhe und hatte eine dunkelbraune Farbe. Am Rand mancher Exemplare war ein schwaches noch dunkleres Streifenmuster zu erkennen. Die Schnecke selbst war sehr dunkelbraun auf der Oberseite und Dunkelgrau auf der Unterseite. Die Oberseite war nur etwas schleimig, wobei die Unterseite etwas stärker verschleimt war. bei der Probenentnahme konnte nur zwischen Ober- und Unterseite unterschieden werden, da die Sacke vollständig kontrahiert war und somit keine weiteren Strukturen erkennbar waren.

Die Epidermis erscheint in rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen mit einer glatten Oberfläche, die deutliche Falten aufweist (Abb. 3). Die Falten verlaufen ungefähr parallel zueinander um das jeweilige Gewebestück herum und sind etwa 200 μm breit (Abb. 2A, B, D, G). Die Falten können allerdings auch stärker unregelmäßig, runzelig sein (Abb. 2E & F). An den Schnittflächen, wo innere Gewebestrukturen sichtbar werden, wirkt die Oberfläche unregelmäßiger und weist Rissartefakte auf (Abb. 3). Auf der Epidermisoberfläche liegen vereinzelt faserige, verzweigte Strukturen von etwa 0,1 μm Stärke und bis zu 75 μm Länge auf (Abb. 3 A, B; Abb. 4 A, B). Höhere Vergrößerungen der Epidermisoberflächen zeigten, dass diese bei den meisten Präparaten vollständig mit Cilien bedeckt sind (Abb. 4). Häufig ist zu erkennen, dass diese apikal kugelförmig aufgeblasen sind (Abb. 3 4, D). Diese kugelförmigen Enden hatten einen Durchmesser von ca. 0,25 μm . Auf einem der Präparate (Abb. 3 F; Abb. 5) waren keine deutlichen Cilien zu erkennen, stattdessen zeigten sich recht gleichmäßig angeordnete Erhebungen auf der Oberfläche, welche teilweise etwas aufgesetzt erschienen. Diese Erhebungen sind 8 μm im Durchmesser und haben einen regelmäßigen Abstand von 20 μm zueinander (Abb. 5). Auch in den erzeugten Querschnitten sind die Cilien an der Oberfläche sehr gut erkennbar (Abb. 6). Die Epidermis wird von dem darunterliegenden Gewebe durch die Basallamina getrennt (Abb. 6 A, Pfeil), wodurch sich hier ein Bereich von 2-4 μm Stärke zwischen den zwei optisch verschiedenen Geweben ergibt. Die obere Schicht bildet das Epithel mit einer gleichmäßigen Struktur aus langgestreckten Epithelzellen. Unter der Basallamina finden sich Fasern, vermutlich Muskulatur,

und kugelige Strukturen, die Teil der extrazellulären Matrix sind.

Transmissionselektronenmikroskop

In einer zusammengesetzten Übersichtsabbildung (Abb. 7) ist die gesamte Epithelschicht im Querschnitt zu sehen. Die Cilien und Mikrovilli bedecken die gesamte Oberfläche und sind im Querschnitt in verschiedensten Winkeln angeschnitten. Die Cilien erkennt man hier als etwas dickere Strukturen mit zwei zentralen dunkleren Punkten, die peripher von mehreren Punkten ringförmig umgeben sind. Die Mikrovilli sind sehr kurz und etwas dünner als die Cilien und finden sich an der gesamten Oberfläche. Am oberen linken Bildrand ist eine Pore zu sehen, welche nach außen von vielen Mikrovilli bedeckt ist. Darunter finden sich sehr viele Vesikel, welche unterschiedliche Helligkeitsgrade aufweisen und fast den gesamten Raum der oberen Hälfte des Epithels einnehmen. In der Mitte der Epithelschicht befinden sich die Zellkerne, welche gut differenziertes Hetero- und Euchromatin aufweisen. Die untere Hälfte ist teilweise noch mit wenigen Vesikeln durchsetzt, besteht aber größtenteils aus großen Vakuolen, die eine gleichmäßige Helligkeit aufweisen. Die Epithelschicht ist nach unten durch die Basallamina von dem darunterliegenden Gewebe abgetrennt. Das darunterliegende Gewebe besteht überwiegend aus extrazellulärer Matrix, welche sich hier durch unregelmäßige fadenförmige Strukturen auszeichnet. Bei genauerer Betrachtung der einzelnen Bestandteile sieht man bei der Pore (Abb. 8 A) den nach außen geöffneten Hohlraum, der an der Außenseite von Mikrovilli begrenzt ist. Die Vesikel finden sich direkt unter der Öffnung und zeigen eine eher runde Form mit einer ungleichmäßigen Umrandung. Außerdem sind im inneren unregelmäßige lineare und punktuelle Anordnungen zu sehen, die zunächst mit der Struktur von Mitochondrien verwechselt werden könnten. In Teilabbildung 8 C kann allerdings der visuelle Unterschied zwischen den Vesikeln und tatsächlichen Mitochondrien deutlich dargestellt werden. Die Mitochondrien zeigen eine recht einheitliche mittelmäßige Elektronendichte sowie eine runde Form und eine hellere Grundsubstanz im Inneren, die den Intermembranraum und die Matrix darstellt. Die Vesikel hingegen haben eine sehr ungleichmäßige äußere Umrandung und im Inneren zeigen sich dunklere, ausgewaschene lineare und punktuelle

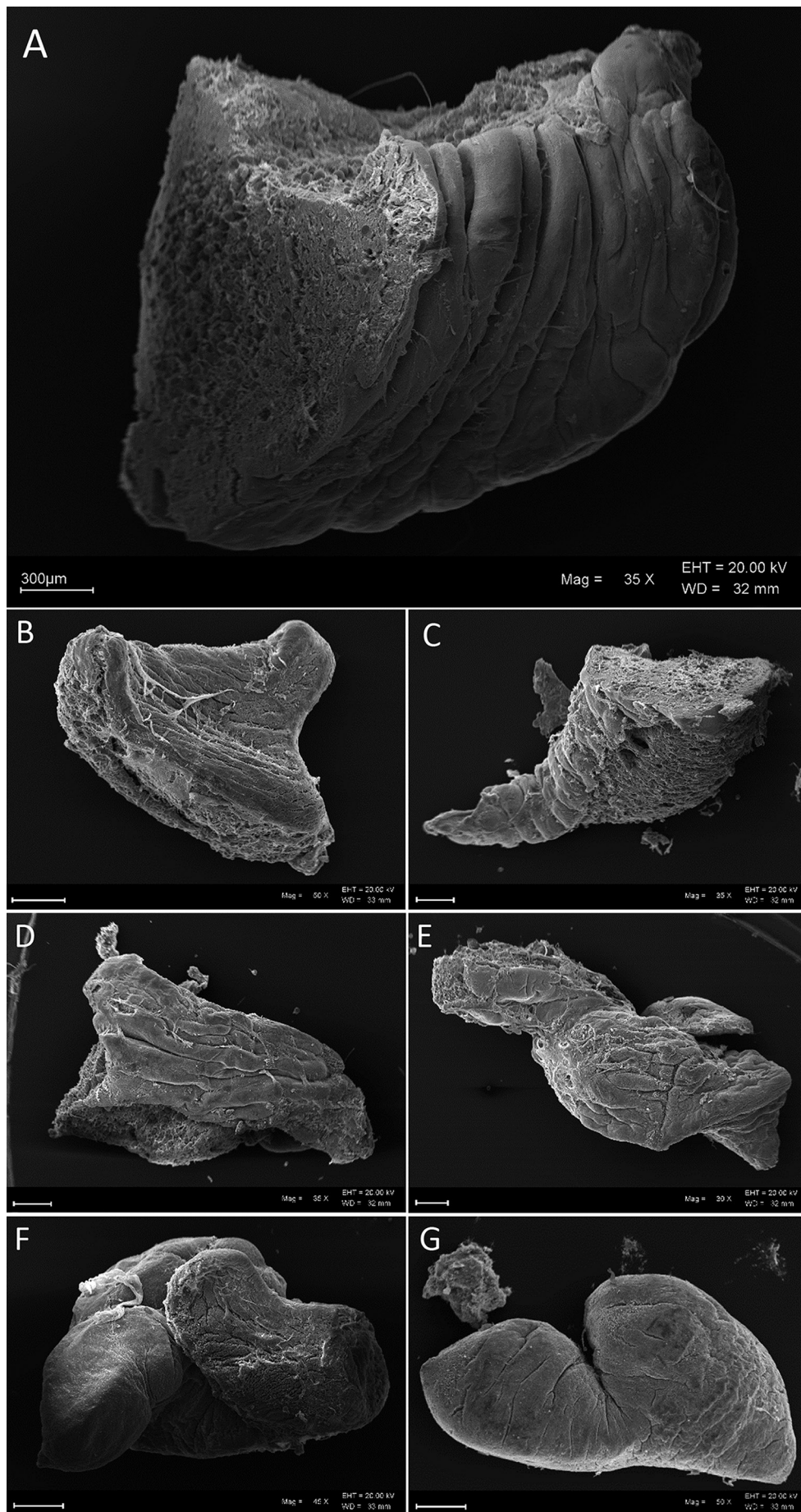


Abb.3. Rasterelektronenmikroskopische Übersichtsabbildungen der Epithel-Präparate. Zu sehen sind die für die Rasterelektronenmikroskopie angefertigten Präparate, im Folgenden beschrieben als Präparate A, B, C, D, E, F und G. Zu sehen ist, dass die mit Epithel bedeckte Oberfläche ebener wirkt als das löchrige offene Gewebe. Ebenfalls zeigt sich hier die faltige Beschaffenheit der Oberfläche sehr gut. Der Maßstab entspricht 300 μm.

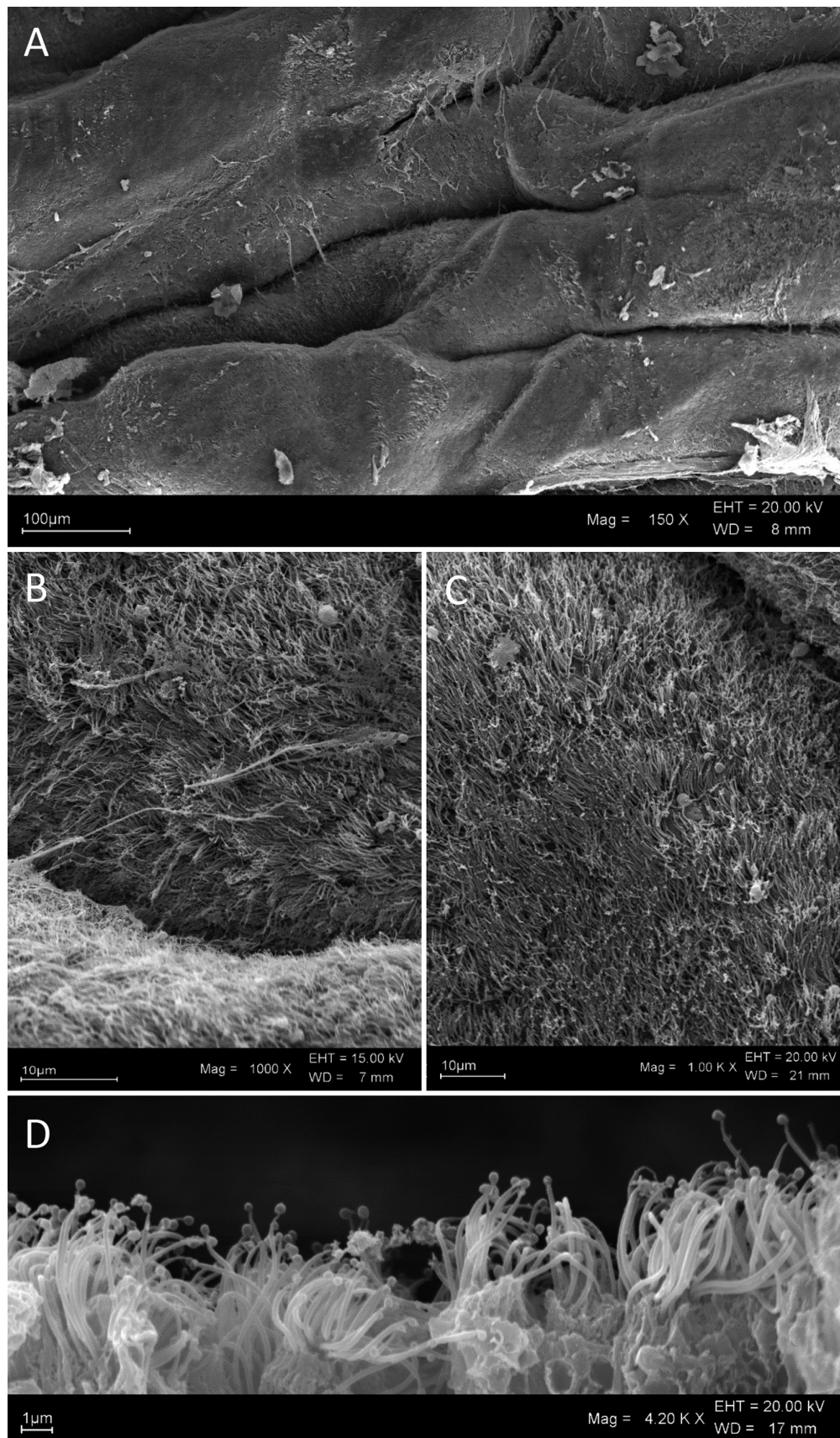


Abb.4. Cilien des Epithels im Rasterelektronenmikroskop. In verschiedenen Vergrößerungen sind die die Oberfläche bedeckenden Cilien mittels Rasterelektronenmikroskop dargestellt. **A:** In einer wenig vergrößerten Ansicht von Präparat D sind die Vertiefungen durch die Falten gut zu sehen, welche oft mit Schleimfäden überspannt sind. Ebenfalls sind die dichten Cilien als leichter Flaum auf der Oberfläche erkennbar. **B:** Eine starke Vergrößerung des Präparates A zeigt eine dicht mit Cilien bedeckte Oberfläche. **C:** Ebenso zeigt die Oberfläche in Präparat E sehr viele Cilien an der Oberfläche, die teilweise einen kugelförmigen Aufsatz am Ende des Ciliums aufweisen. **D:** Sehr hohe Vergrößerungen zeigen die kugelförmigen Aufsätze etwas detaillierter. Die Cilien scheinen spitz zuzulaufen bevor sie mit dem kugelförmigen Aufsatz abgeschlossen werden.

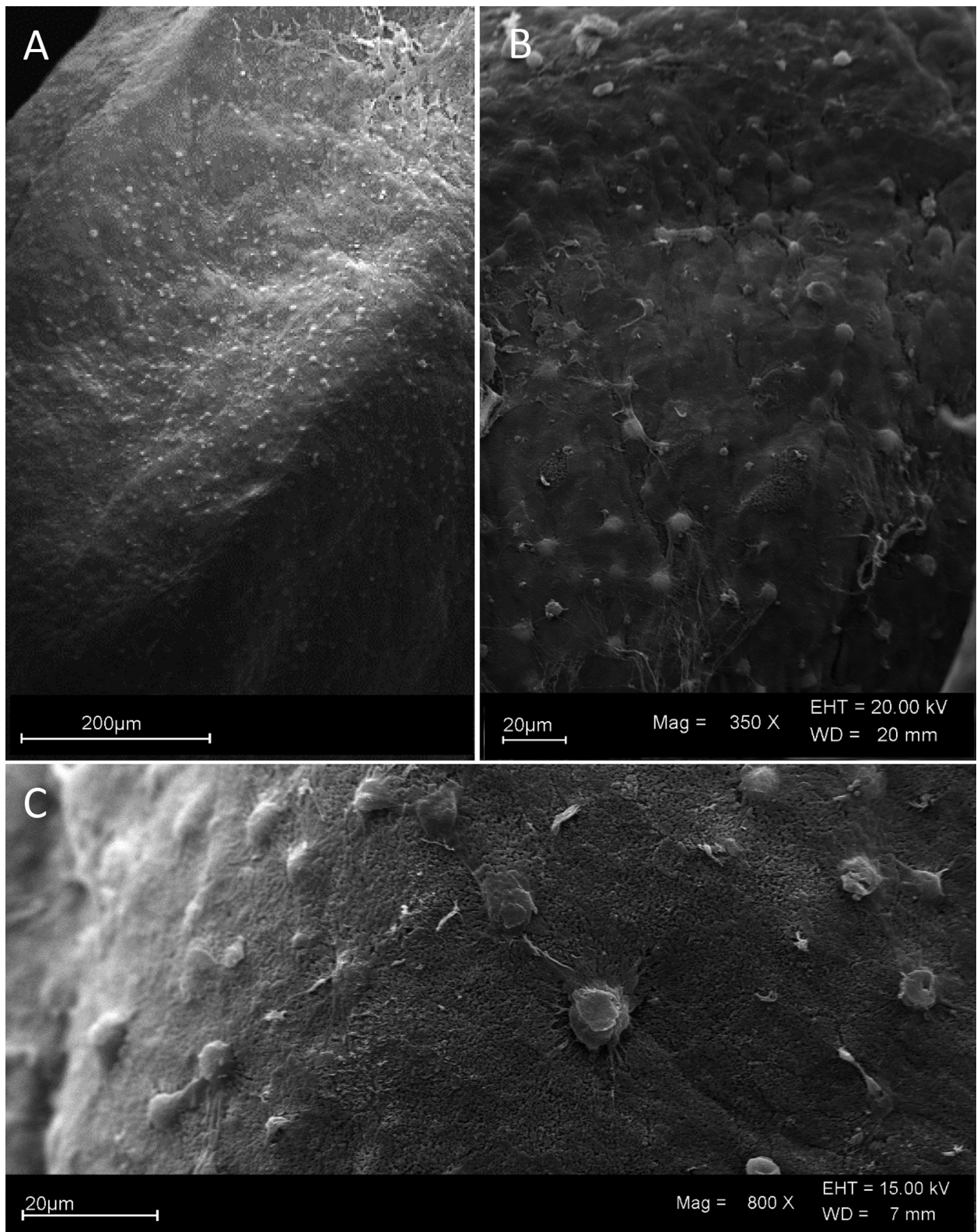


Abb.5. Glatteres Epithel mit eventuellen “Schleimporen” im Rasterelektronenmikroskop. Poren auf der Oberfläche von Präparat F in verschiedenen Vergrößerungen durch das Rasterelektronenmikroskop. **A:** Man kann die gleichmäßige Verteilung der “Poren” auf der Oberfläche erkennen. **B:** Eine höhere Vergrößerung zeigt durch die vielen fadenartigen Strukturen, dass die Oberfläche mit Schleim bedeckt ist. **C:** Weitere Vergrößerungen der “Poren” zeigen, dass es sich hierbei um eine runde Erhöhung handelt, die sich teilweise von der Oberfläche abzuheben scheint und durch fadenartige Strukturen mit dieser verbunden zu sein. Die Oberfläche wirkt uneben und könnte mit Mikrovilli bedeckt sein.

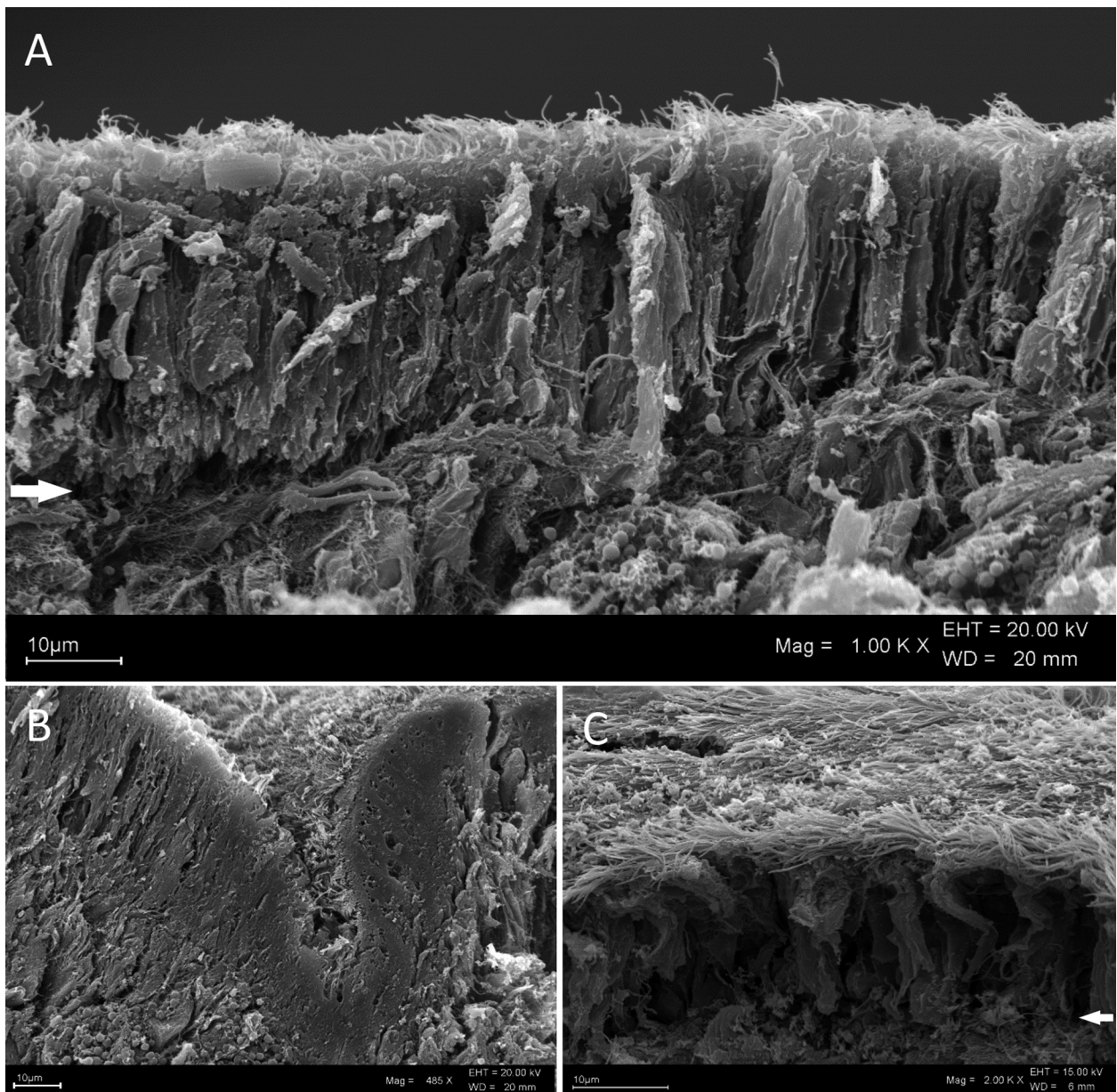


Abb.6. Querschnitte durch das Epithel im Rasterelektronenmikroskop. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen die Oberfläche von *V. viviparus* im Querschnitt von Präparat A. **A:** Abgebildet ist die Epithelschicht, welche nach oben durch Cilien abgeschlossen ist und nach unten durch die Basallamina von dem darunterliegenden Gewebe getrennt ist (Pfeil). Man erkennt ebenfalls, dass die Zellen sehr locker erscheinen, was auf viele mit Flüssigkeit gefüllte Vesikel hinweist. **B:** Querschnitt durch eine der Falten des Epithels. Die Zellen sind hier deutlich dichter gepackt. Trotzdem kann der Übergang vom Epithel zum darunterliegenden Gewebe erahnt werden. Der Maßstab entspricht 20 μ m. **C:** Vergleichbar mit Teilabbildung A ist hier durch eine Draufsicht die mit Cilien bedeckte Oberfläche sichtbar. Die Zellen der Epithelschicht wirken ebenfalls sehr locker und eine Abgrenzung durch die Basallamina ist auch zu erkennen (Pfeil). Hier ist die Zellschicht allerdings dünner als in Abb. A. Der Maßstab entspricht 10 μ m.

Strukturen. Eine Detailaufnahme des Zellkerns (Abb. 8 B) zeigt den zentralen Nucleolus und die Anhäufung des Heterochromatins um diesen sowie an der Zellkernmembran und an einigen Stellen im Zellkern. In dieser Abbildung sind auch die mit Pfeilen markierten Zellmembranen, die die einzelnen Zellen voneinander trennen sehr gut zu erkennen.

Teilweise sind ganze Reihen von Poren nebeneinander zu erkennen (Abb. 9 A). Hier ist das Epithel deutlich dicht mit Cilien mit einer typischen 9x2 +

2-Struktur und 2 μ m langen und 0,1 μ m dicken Mikrovilli bedeckt (Abb. 9 B und C). Die Zellen sind dicht gepackt mit Vesikeln, die an die Poren grenzen und diese umlagern. Bei genauerer Betrachtung der Vesikel fällt an wenigen Stellen auf, dass diese ihre sonst schon ungleichmäßige Struktur verlieren und ineinander übergehen (Abb. 9, E). Zudem sind hier Strukturen in der unteren Hälfte der Epithelzellen zu sehen, welche eventuell Endoplasmatisches Retikulum darstellen könnten.

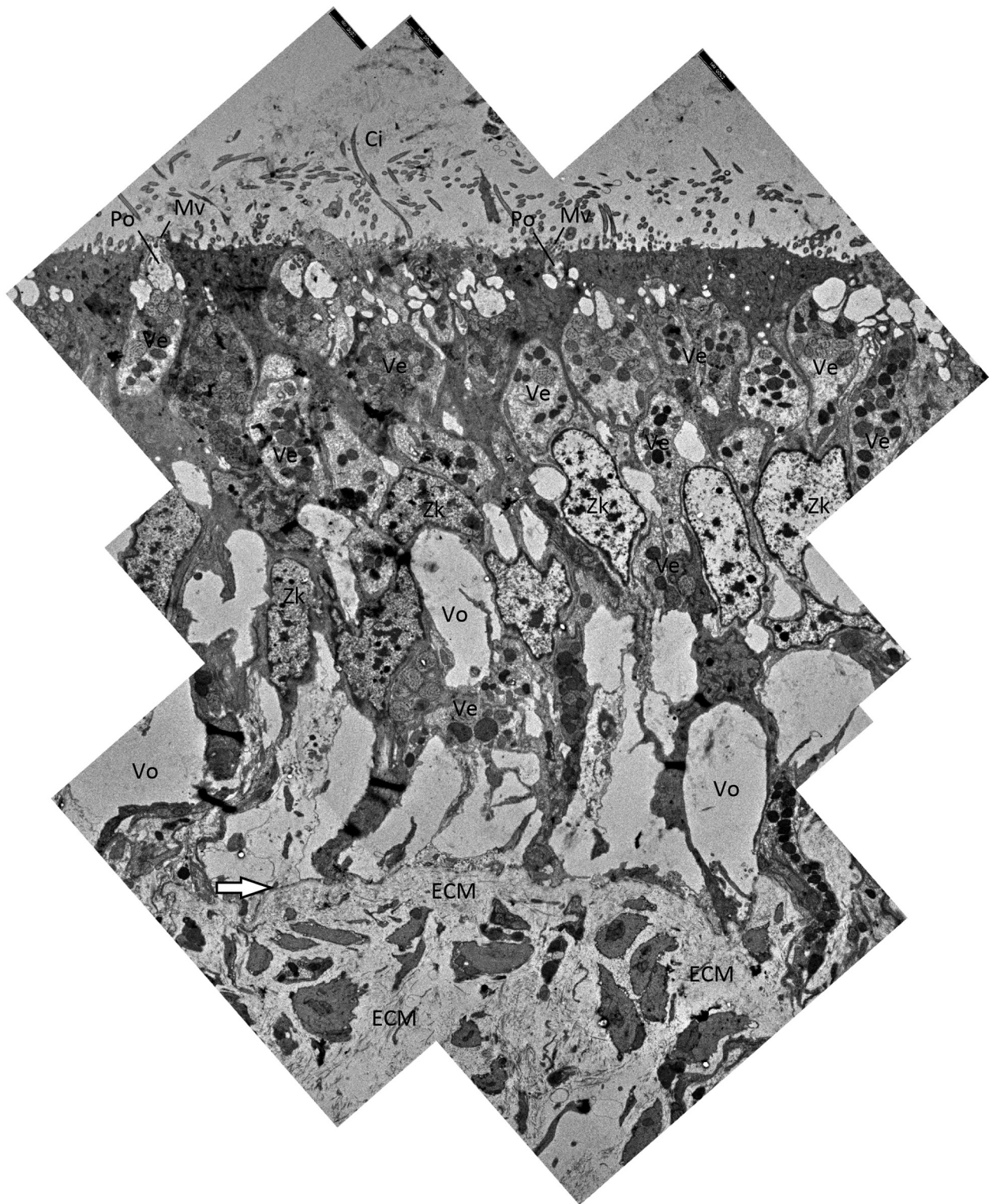


Abb.7. Querschnitte durch das Epithel im Rasterelektronenmikroskop. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen dÜbersichtsabbildung des Querschnittes im Transmissionselektronenmikroskop. Die Abbildung wurde aus mehreren Teilabbildungen zusammengesetzt. Oben sind die in verschiedenen Winkeln angeschnittenen Cilien (Ci) zu sehen. Am linken Bildrand ist direkt an der Oberfläche eine Pore (Po) zu sehen, die an der Außenseite von Mikrovilli (Mv) umrandet ist. Innerhalb der Zellen gibt es viele große Vesikel, die mit kleineren Vesikeln unterschiedlicher Reifegrade (Ve) gefüllt sind, welche sich in unterschiedlicher Helligkeit äußern. Die Zellkerne (Zk) liegen mittig in den Zellen. Am unteren Rand der Zellen befinden sich sehr große "Vakuolen" (Vo). Darunter befindet sich die Basallamina (Pfeil), die die Zellen des Epithels von dem darunterliegenden Gewebe trennt. Darunter befinden sich undefinierbare Zellen und Zellbestandteile eingebettet in extrazellulärer Matrix (ECM). Die Skala (schwarzer Balken, oberer Bildrand) entspricht 2,5 μm .

Diskussion

Bei dem verwendeten Exemplar war aufgrund des nur noch schwach erkennbaren Streifenmusters des Gehäuses davon auszugehen, dass es sich bei dem gewählten Exemplar um ein adultes Tier gehandelt hat. Daher muss im Folgenden keine Rücksicht auf spezielle morphologische Merkmale anderer Entwicklungsstadien genommen werden.

Das markanteste Merkmal der untersuchten Epithelzellen sind wohl die in sehr großen Massen auftretenden Vesikel. Diese zeigten zunächst Mitochondrien-ähnliche Strukturen. Allerdings konnte im weiteren Verlauf aufgezeigt werden, dass es sich hierbei nicht um Mitochondrien handelt, da der Vergleich mit tatsächlichen Mitochondrien starke Unter-

schiede aufzeigte (Abb. 8 C). Diese Vesikel zeigten für Schleimvesikel typische, verschiedene Reifegrade (Abb. 7, 8, 9) und scheinen sich gehäuft unter den Poren an der Oberseite des Epithels zu befinden (Abb. 9 A). Die Lage der Vesikel direkt unter Poren, die große Menge an Vesikeln (Abb. 7) sowie die verschiedenen Reifegrade derer sprechen zunächst für schleimbeinhaltende Vesikel, obwohl diese scheinbar komplexere innere Strukturen aufweisen. In *Aplysia californica* wurden morphologisch ähnliche Vesikel als Mukusvesikel beschrieben (Prince, 2007). Ähnlich sind bei *A. californica* die undefinierten Ränder der inneren Vesikel, die teilweise Desintegration sowie die lineare und punktuelle innere Struktur dieser. Allerdings

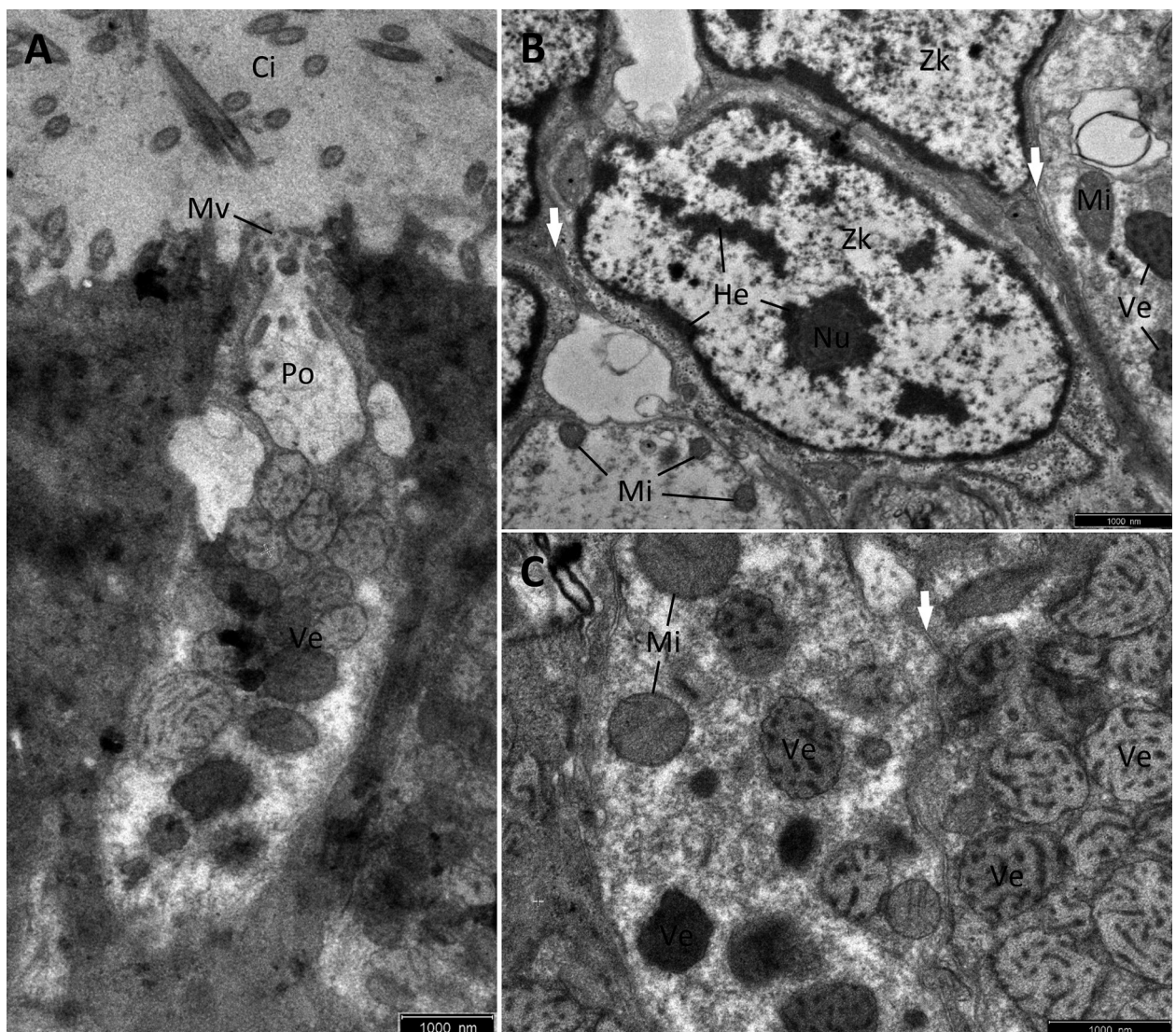


Abb. 8. Transmissionselektronische Detailansichten verschiedener Zellkomponenten. Die gefundenen Zellkomponenten wurden mit 12.000-facher Vergrößerung detailliert dargestellt. Die Maßstäbe aller Abbildungen entsprechen 1 μ m. **A:** Die die Pore (**Po**) umgebenden Mikrovilli (**Mv**) und die darüber liegenden Cilien (**Ci**) bedecken die Öffnung der Pore nach außen. Direkt darunter befinden sich viele Vesikel verschiedener Reifegrade. **B:** Ein Zellkern (**Zk**) mit gut sichtbarem Nucleolus (**Nu**) und den verschiedenen Chromatinstrukturen. Am Zellkernrand, um den Nucleolus sowie an einzelnen Stellen im Zellkern findet sich das dichte Heterochromatin (**He**). In umliegenden Zellen sind Mitochondrien (**Mi**) und Vesikel (**Ve**) zu sehen. Auch die abtrennenden Zellmembranen (Pfeile) sind zu erkennen. **C:** Deutliche Darstellung der visuellen Unterschiede zwischen Mitochondrien (**Mi**) und Vesikeln (**Ve**) in den Epithelzellen. Die Zellmembran ist mit einem Pfeil gekennzeichnet.

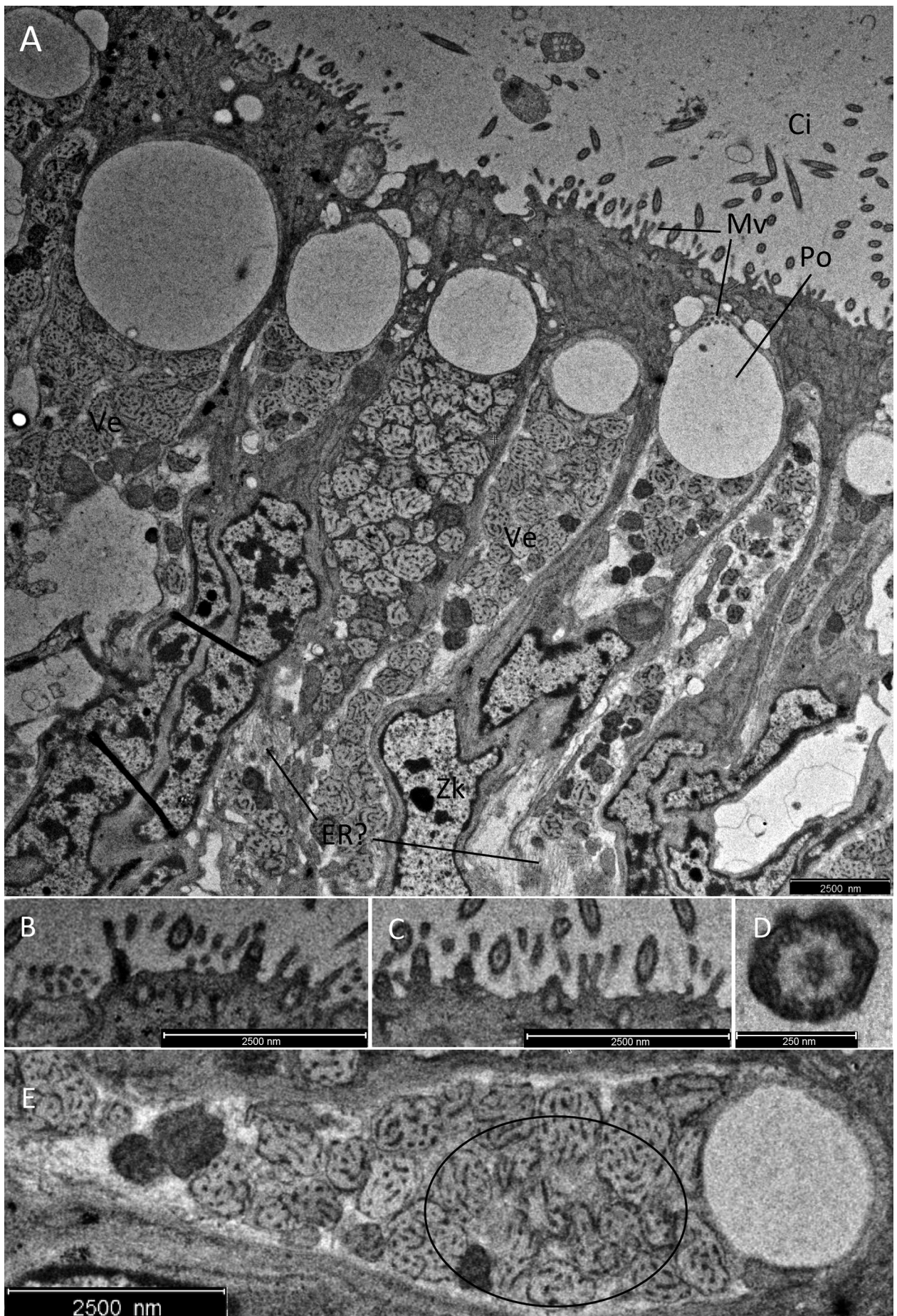


Abb. 9. Eine Reihe von Zellen mit Poren und Mikrovilli-besetzter Oberfläche in rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen. Eine Übersicht und verschiedene Vergrößerungen der gleichen Aufnahme, die die Details zeigen. **A:** Übersicht einer Reihe von Poren (**Po**), unter welchen große Mengen an Vesikeln (**Ve**) zu sehen sind, sowie die mit Cilien (**Ci**) und Mikrovilli (**Mv**) bedeckte Oberfläche. Am unteren Ende der Abbildung ist mögliches Endoplasmatisches Retikulum

fehlen dort die verschiedenen Reifegrade und die innere Strukturierung scheint auch etwas klarer und definierter als in den untersuchten Präparaten aus *V. viviparus*. Die unterschiedlichen Reifegrade der Vesikel und die Desintegration unmittelbar unterhalb der Pore sprechen dafür, dass es sich um Schleimvesikel handelt. Die größeren, hellen, klaren Vakuolen an der zur Basallamina zugewandten Seite (Abb. 7) sind vermutlich mit Flüssigkeit beziehungsweise mit Sekret gefüllt. Aufgrund der scheinbar hohen sekretorischen Funktion der Zellen könnte hier geschlussfolgert werden, dass es sich um ein Sekret handelt, welches nach außen abgegeben werden kann. In Harrison (1994) werden solche gleichmäßig hellen, klaren Vakuolen als Säure-Vesikel bezeichnet. Allerdings gibt es keine bekannten Studien die eine Säureproduktion in *V. viviparus* aufzeigen, weshalb dies eher unwahrscheinlich ist. Die generelle Ultrastruktur von Drüsenzellen in Gastropoden beinhaltet in der Regel ein ausgedehnt raues oder granuliertes endoplasmatisches Retikulum, viele Golgi-Apparate, Mitochondrien und membrangebundene sekretorische Vesikel mit Granula (Harrison, 1994). Allerdings wurden bis auf die in Abb. 9 A gefundenen Strukturen weder große Mengen an endoplasmatischem Retikulum noch Golgi-Apparate gefunden. Durchaus könnte dies an der Präparation liegen, sodass zum Beispiel dünne Membranen schwer sichtbar sind, allerdings waren die Membranen der gefundenen Mitochondrien, sowie einige Zellmembranen auch gut sichtbar.

Die hohe Schleimbildung an der Oberfläche (z.B. Abb. 3 B) und die dicht mit langen Cilien bedeckte Oberfläche spricht durchaus dafür, dass es sich hierbei um den Fuß unseres Präparates handeln könnte. Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigten auch große Ähnlichkeit mit den Aufnahmen der Füße anderer Spezies wie z. B. *Gomphina veneriformis* (Park, 2012). Auch das Finden der 9x2 + 2-Struktur (Abb. 9 D) spricht dafür, dass es sich hier nicht um primäre, sondern sekundäre Cilien handelt, welche in der Regel motil sind (Lewin, 2007). Die Cilien an der Unterseite in *V. viviparus* besitzen nicht nur die Funktion der Fortbewegung, sondern auch der Futtersammlung und müssen daher dort in großen Mengen vorhanden sein und sich gezielt in eine Richtung bewegen können. Die teilweise entdeckten

kugelförmigen Aufsätze auf den Cilien wurden als Artefakte der Fixierung interpretiert, als sogenannte „paddle cilia“, die Aufgrund der Fixierungsbedingungen entstehen können (Beninger, 1995).

Das Epithelium sondert eine Vielzahl von Stoffen ab, wie zum Beispiel anorganische Säuren, die Schale, Skleroproteine und Schleim (Simkiss, 1988). Bei Einbezug, dass *V. viviparus* in der Lage ist ein Schleimgewebe an ihrer Unterseite zu bilden, welches zur Nahrungsaufnahme dient, kann es durchaus in Betracht gezogen werden, dass die verschiedenen Vesikel und Vakuolen, verschiedene Sekrete produzieren, die verschiedene Funktionen ausüben. So könnten die verschiedenen Komponenten extrazellulär ein Gewebe in einem anderen Sekret bilden um das sogenannte Schleimgewebe zu bilden. Die Cilien sorgen daraufhin für eine Gleichverteilung des Schleims und die Bewegung des Schleimgewebes an der Unterseite der Schnecke.

Die andere Form des Epithels in den rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen (Abb. 5) könnte von einem anderen Bereich auf der Schnecke stammen, weshalb dieser Ausschnitt sich so stark von den anderen unterscheidet. Die Oberfläche ist hier vermutlich nur mit Mikrovilli bedeckt, weshalb sie rau erscheint, aber keine Cilien sichtbar sind. Die Erhebungen können ohne weitere Untersuchungen zunächst nur als Poren interpretiert werden. Untermuert wird dies mit dem vergleichbaren Abstand der Drüsenzellen in den TEM Aufnahmen und den Erhebungen der REM Aufnahmen, bei denen es sich vermutlich um Schleim handelt (Abb. 5). Im Allgemeinen ist es auch durchaus sinnvoll, dass die meisten entnommenen Proben vom Fuß und dessen Unterseite zu stammen scheinen, da das Exemplar der Probenentnahme am Deckel herausgezogen wurde, welcher fest mit dem Fuß verwachsen ist.

Um für die gefundenen Ausschnitte genauere Zuordnungen machen zu können, hätte das Exemplar besser präpariert werden müssen. So hätte man bei der Probenentnahme zuordnen müssen, an welcher Stelle Gewebe entnommen worden ist. Zudem könnte an verschiedenen Stellen Gewebe entnommen werden (Kopf, Mund, Sohle, Oberseite des Fußes, etc.), welches daraufhin auf seine morphologischen Merkmale verglichen werden könnte

(Abb. 9 fortgesetzt) zu sehen (ER?) B und C: Eine starke Vergrößerung der Oberfläche der Zellen zeigt, dass diese nicht nur mit Cilien, sondern auch mit Mikrovilli bedeckt ist. Die Cilien sind dicker und zeichnen sich durch einen dunklen Punkt in der Mitte aus. Die Skala entspricht 2,5 μm . D: Eine starke Vergrößerung der Cilien im Querschnitt zeigt eine typische 9x2 + 2-Struktur der Axoneme. E: Bei genauer Betrachtung der Vesikel kann man sehen, wie sich die Struktur dieser verliert und diese sich aufzulösen scheinen (Oval).

Danksagung

Unser herzlichster Dank geht an unsere Betreuer Prof. Thomas Stach und Peer Martin, da sie sich immer bemüht haben uns alles zu erklären und näher zu bringen, was wir für unseren Ausflug in die Elektronenmikroskopie brauchten. In den sehr kurzen vier Wochen waren sie immer da und haben unsere Fragen beantwortet und sind uns bei Problemen immer ohne zu zögern zur Hand gegangen. Durch euch haben wir in der kurzen Zeit doch sehr viel gelernt und hoffen uns das angelernte Wissen beizubehalten und bald wieder zu Nutze machen zu können.

Literatur

- Beninger P. G., Potter T. M., Saint-Jean S. (1995): Paddle cilia fixation artefacts in pallial organs of adult *Mytilus edulis* and *Placopecten magellanicus* (Mollusca, Bivalvia): Can. J. Zool. 73: 610-614
- Bubel, A. (1984): Mollusca: Epidermal cells. In J. Bereiter-Hahn, A.G. Mataltsy, and K.S. Richards (eds.): Biology of the Integument, Vol. I, Invertebrates. Springer-Verlag, 400-447.
- Buddenbrock, W. (1956): Vergleichende Physiologie: Band III Ernährung, Wasserhaushalt und Mineralhaushalt der Tiere. Springer basel AG.
- Fechter, R., Falkner, G. (1990): Steinbachs Naturführer – Weichtiere – Europäische Meeres- und Binnenmollusken: Mosaik-Verlag.
- Fretter, V., Graham, A. (1962): British Prosobranch Molluscs. Ray Society London.
- Graham, A. (1957): The molluscan skin with special reference to prosobranchs. Proc. Malacol. Soc. Lond. 32: 135-144.
- Harrison, F. W. (1994): Microscopic Anatomy of Invertebrates, Volume 5, Mollusca I: Wiley-Liss, Inc.
- Lewin, B. (2007): Cells: Jones and Bartlett Publishers.
- Machin, J. (1977): Role of integument in molluscs. In B.L. Gupta, R.B. Moreton, J.C.
- Oschman, and B.J. Wall (eds.). Transport of Ions and Water in Animals. Academic Press: 735-762.
- Park J., Lee J., Lee Y., Kim J. (2012): Micromorphology and Ultrastructure of the Foot of the Equilateral Venus *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae): CellBio, Vol. 1 1: 1-16.
- Prince, J. (2007): Opaline gland ultrastructure in *Aplysia californica* (Gastropoda: Anaspidea): Journal of Molluscan Studies.
- Simkiss, K. (1988): Molluscan skin (excluding cephalopods). In E.R. Trueman and M.R. Clarke (eds.): The Mollusca, Form and Function. Academic Press, 11: 11-35.